

30.10.03

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

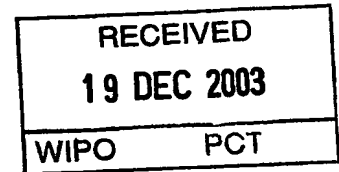
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2002年11月 1日  
Date of Application:

出願番号 特願2002-319418  
Application Number:  
[ST. 10/C]: [JP2002-319418]

出願人 株式会社日本バリアフリー  
Applicant(s):

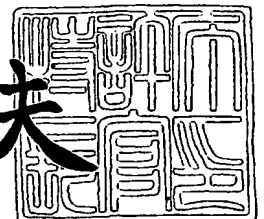


PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年12月 4日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 OTP02013

【提出日】 平成14年11月 1日

【あて先】 特許庁長官 太田 信一郎 殿

【国際特許分類】 A61K 7/00

【発明者】

【住所又は居所】 東京都新宿区払方町9番地 エピ市ヶ谷301号

【氏名】 江藤 忠士

【特許出願人】

【識別番号】 501195223

【氏名又は名称】 株式会社日本バリアフリー

【代理人】

【識別番号】 100101557

【弁理士】

【氏名又は名称】 萩原 康司

【電話番号】 03-3226-6631

【選任した代理人】

【識別番号】 100096389

【弁理士】

【氏名又は名称】 金本 哲男

【電話番号】 03-3226-6631

【選任した代理人】

【識別番号】 100095957

【弁理士】

【氏名又は名称】 亀谷 美明

【電話番号】 03-5919-3808

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 040268

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0212625

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 コンドロイチン硫酸Na, コンドロイチン硫酸含有物及びそれらの製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 魚類の軟骨を酵素処理してタンパク質を抽出させた溶液を、ろ過した後、ろ液にアルコールを添加してコンドロイチン硫酸Naを析出させることを特徴とする、コンドロイチン硫酸Naの製造方法。

【請求項2】 酵素処理に際しアルカリを添加することを特徴とする、請求項1に記載のコンドロイチン硫酸Naの製造方法。

【請求項3】 アルコールを添加して析出させたコンドロイチン硫酸Naを、更に精製することを特徴とする、請求項1又は2に記載のコンドロイチン硫酸Naの製造方法。

【請求項4】 請求項1, 2又は3の製造方法によって製造されたコンドロイチン硫酸Na。

【請求項5】 医薬品、医薬部外品、医薬品添加物、化粧品、食品添加物の原料素材のいずれかであることを特徴とする、請求項4に記載のコンドロイチン硫酸Na。

【請求項6】 魚類の軟骨を酵素処理してタンパク質を抽出させた溶液を、ろ過した後、ろ液を乾燥させることを特徴とする、コンドロイチン硫酸含有物の製造方法。

【請求項7】 魚類の軟骨を酵素処理してタンパク質を抽出させた溶液を、ろ過した後、ろ液にアルコールを添加してコンドロイチン硫酸含有物を析出させ、この析出させたコンドロイチン硫酸含有物を乾燥させることを特徴とする、コンドロイチン硫酸含有物の製造方法。

【請求項8】 酵素処理に際しアルカリを添加することを特徴とする、請求項6又は7に記載のコンドロイチン硫酸含有物の製造方法。

【請求項9】 請求項6, 7又は8に記載の製造方法によって製造されたコンドロイチン硫酸含有物。

【請求項10】 化粧品、食品素材のいずれかであることを特徴とする、請

求項9に記載のコンドロイチン硫酸含有物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、コンドロイチン硫酸Na、コンドロイチン硫酸含有物及びそれらの製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

例えば鮭の鼻軟骨などといった魚類の軟骨中には、コンドロイチン硫が存在することが、これまでの調査研究で明らかになっている。また最近では、鮭の鼻軟骨由来のコンドロイチン硫酸Naを化粧料や食品などに利用することが検討されている。

【0003】

従来、鮭の鼻軟骨などからコンドロイチン硫酸Naを製造する方法として、特開2001-231497や特開2001-247602が開示されている。これら従来の方法では、鮭の鼻軟骨などをマイナス30～60℃で低温粉碎して脱脂した後、アルカリ処理・加熱して、酵素処理し、その消化液をエタノール沈殿・ろ過・遠心分離後、乾燥させさらにイオン交換樹脂による溶解・ろ過後凍結乾燥することによりコンドロイチン硫酸Naを取得するようにしている。

【0004】

【特許文献1】

特開2001-231497号公報

【特許文献2】

特開2001-247602号公報

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、従来の製造方法では、連続多段限外ろ過処理、または脱イオン水での溶解・ろ過を必要とすることから設備投資多大な費用を必要とし、製造コストが高くなり、コンドロイチン硫酸Naが相当に高額となってしまう。また、

エタノール沈殿・ろ過・遠心分離を数回行うために製造に要する時間が長くなってしまう。

#### 【0006】

従って本発明の目的は、なるべく低コストで短時間にコンドロイチン硫酸Naやコンドロイチン硫酸含有物を製造することにある。

#### 【0007】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明によれば、魚類の軟骨を酵素処理してタンパク質を抽出させた溶液を、ろ過した後、ろ液にアルコールを添加してコンドロイチン硫酸Naを析出させることを特徴とする、コンドロイチン硫酸Naの製造方法が提供される。

#### 【0008】

また、本発明によれば、魚類の軟骨を酵素処理してタンパク質を抽出させた溶液を、ろ過した後、ろ液を乾燥させることを特徴とする、コンドロイチン硫酸含有物の製造方法が提供される。

#### 【0009】

こうして製造されたコンドロイチン硫酸Naは、例えば医薬品、医薬部外品、医薬品添加物、化粧品、食品添加物の原料素材に利用できる。また、こうして製造されたコンドロイチン硫酸含有物は、例えば化粧品、食品素材に利用できる。

#### 【0010】

##### 【発明の実施の形態】

以下、本発明の好ましい実施の形態を説明する。まず、コンドロイチン硫酸Naの製造方法を説明する。まず、鮭鼻軟骨を40℃～50℃で1時間～2時間温水洗浄する。この場合、塩酸で洗浄してもよい。なお、軟骨には骨及び魚肉が付着していてもよい

#### 【0011】

次に、鼻軟骨に鼻軟骨と同量の水及び鼻軟骨に対して固形分濃度0.1～1.0重量%のタンパク分解酵素（例えばアロアーゼ）を入れ、50℃～60℃で3時間～4時間攪拌する。タンパク分解酵素を用いた酵素処理（抽出）をすることにより、タンパク質を抽出して溶解させた抽出溶液を得る。なお、タンパク分解

酵素としてアロアーゼ、プロテイナーゼ等を用いた場合は、比較的タンパク質を低分子化することができるため、酵素処理で得られた抽出溶液には、タンパク質が比較的 low molecular weight 化した状態で含まれている。

#### 【0012】

その後、抽出溶液を 90～95℃で 5～10 分間加熱し、酵素失活させる。更に、活性炭を抽出溶液に対して 0.3～1.0% の重量で添加し 50℃～60℃ で 1 時間～2 時間攪拌し、脱脂・脱臭・脱色を行う。

#### 【0013】

次いで、抽出溶液にアルカリ（例えば苛性ソーダ）を加え、pH を 5～6 に調整する。

#### 【0014】

次いで、ろ過助剤を加えフィルタプレスでろ過する（脱脂）。ろ過後の抽出溶液（ろ液）は、比較的 low molecular weight 化されたタンパク質を含有している。

#### 【0015】

ろ過された抽出溶液に、50% 以上のアルコール（例えばエタノール）を加え、コンドロイチン硫酸 Na を析出させ、沈殿させる。冷却後、沈殿した結晶を回収する。

#### 【0016】

次いで、回収した結晶を 2 倍に水溶解する。結晶を水溶解して得た抽出溶液を、陽イオン交換樹脂を通して精製し、水溶液中からタンパク質を除去する。抽出溶液を濃縮後、スプレー乾燥する。このように、抽出溶液をスプレー乾燥してコンドロイチン硫酸 Na を得ることができるので、大量生産が可能となる。従って、低コストを図ることができる。

#### 【0017】

なお、ろ過された抽出溶液に加えるアルコールの濃度を上げながら、除タンパクを繰り返すことにより、及び、ろ過された抽出溶液を再度メンブランフィルター等でろ過することにより、より高品質（医薬品グレード）のコンドロイチン硫酸 Na を製造することが可能となる。

#### 【0018】

次に、コンドロイチン硫酸Naの製造方法にかかる本発明の別の実施形態を説明する。まず、鮭の鼻軟骨を40℃～50℃で1時間～2時間温水洗浄する。この場合、塩酸で洗浄してもよい。軟骨には骨及び魚肉が付着していてもよい。

【0019】

次いで、25%濃度のアルカリ（例えば苛性ソーダ）を軟骨量に対し0.1～2.0重量%加えると共に、タンパク分解酵素（例えば固形分濃度0.2%のパンクレアチン）を入れ、この水溶液を50℃～60℃で3時間～4時間攪拌する。こうして、タンパク分解酵素を用いた酵素処理（抽出）をすることにより、コンドロイチン硫酸Naとタンパク質を切断し、コンドロイチン硫酸Naとタンパク質を抽出して溶解させた抽出溶液を得る。なお、パンクレアチンには、食塩が配合されている。また、キュウイ酵素（アクチニジン）等をタンパク分解酵素に用いた場合は、比較的タンパク質を低分子化させず、コンドロイチン硫酸Naとそれ以外の物質に分離することができる。タンパク分解酵素としてパンクレアチン等を用いて得られた抽出溶液には、タンパク質が比較的高分子の状態のままで含まれている。

【0020】

その後、90～95℃で5～10分間加熱し、酵素失活させる。

【0021】

更に、活性炭を抽出溶液に対して0.3～2.0%の重量で添加し、50～60℃で1時間～2時間攪拌し、脱脂・脱臭・脱色する。

【0022】

次いで、アルカリ性となっている抽出溶液に酢酸を加え、pHを5～6に調整する。

【0023】

ろ過助剤を加え、フィルタプレスでろ過する。

【0024】

ろ過された抽出溶液（ろ液）に、50%以上のアルコール（例えばエタノール）を加え、コンドロイチン硫酸Naを析出させ、沈殿させる。冷却後、沈殿した結晶を回収する。



## 【0025】

次いで、沈殿した結晶を再度高濃度のアルコールで攪拌脱水し、冷却沈殿後、結晶回収又は遠心分離にて結晶を回収する。

## 【0026】

上述したように、タンパク分解酵素としてパンクレアチン等を用いると、タンパク質が比較的高分子の状態のまま抽出されるので、陽イオン交換樹脂を通して精製する必要が無く、減圧乾燥ができる。この場合、イオン交換樹脂や大型のスプレードライ等高額の設備投資が不要である。従って、低コストにコンドロイチン硫酸Naを製造できる。

## 【0027】

こうして製造されたコンドロイチン硫酸Naは、特に医薬品、医薬部外品、医薬品添加物、化粧品、食品添加物として利用できる。

## 【0028】

次に、コンドロイチン硫酸含有物の製造方法にかかる本発明の実施の形態を説明する。先ず、鮭の軟骨を40～50℃の温水で1～2時間洗浄する。この軟骨に同量の水を加えて得た水溶液にタンパク分解酵素（例えば固形分濃度0.1～1.0%のアロアーゼ）を入れ、50～60℃で3～4時間攪拌して、酵素処理し、タンパク質を抽出させた抽出溶液を得る。

## 【0029】

その後、90～95℃で5～10分間加熱し、酵素失活させる。

## 【0030】

更に、活性炭を抽出溶液に対して0.3%～1.0の重量で添加し、50～60℃で1～2時間攪拌し、脱脂・脱臭・脱色する。

## 【0031】

そして、アルカリ（例えば苛性ソーダ）を加えてpHを5～6に調整した後、ろ過助剤を加えフィルタプレスでろ過する。

## 【0032】

更に、ろ過した抽出溶液をスプレードライで乾燥させ、コンドロイチン硫酸含有物を得る。

**【0033】**

このコンドロイチン硫酸含有物の製造方法において、酵素処理する際に25%濃度のアルカリ（例えば苛性ソーダ）を軟骨量に対し1～5重量%添加しても良い。

**【0034】**

また、ろ過した後、ろ液にアルコールを添加してコンドロイチン硫酸含有物を析出させ、その析出させたコンドロイチン硫酸含有物を乾燥させても良い。

**【0035】**

この製造方法によれば、コンドロイチン硫酸、コラーゲン等を、複合体として同時に抽出できる。組成としては、コンドロイチン硫酸、コラーゲン、アミノ酸、ヒアルロン酸、グルコサミンがある。原料の種類、使用する酵素の種類、酵素処理の方法をそれぞれ選択することにより、含有物の組成を、コンドロイチン硫酸5%～60%、コラーゲン5%～40%に調節することができる。こうして製造されたコンドロイチン硫酸含有物は、特に化粧品、食品添加物の原料素材、食品素材として利用できる。

**【0036】**

なお、タンパク質を抽出させるタンパク分解酵素を選択することにより、含有物の組成が変わる。

**【0037】**

また、原料として用いる鮭の軟骨は、例えば、鮭頭部の下あごと目の後をカットした、軟骨を含む部分（ハーフカット）を用いる。なお、鮭軟骨、鮭頭部をそのまま使用することも可能である。原料は、鮭頭部、ハーフカット、鮭軟骨の順に、手間がかかり、価格が上昇するが、コンドロイチン硫酸含有量が多くなる。従って、原料を選択することにより、コンドロイチン硫酸含有量の低い低価格品から、コンドロイチン硫酸含有量の高い高価格品まで対応して製造することができる。

**【0038】****【実施例】****（実施例1）**

先ず、鮭の軟骨を45℃の温水で2時間洗浄し、脱脂・脱臭した。この軟骨に同量の水を加え、水溶液を得た。固形分濃度0.1%のタンパク分解酵素（アロアーゼ）を入れ55℃で3時間攪拌して酵素処理し、抽出溶液を得た。その後、95℃で5分間加熱し、酵素失活させた。更に、活性炭を抽出溶液に対して0.3%の重量で添加し、55℃で1時間攪拌し、脱脂・脱臭・脱色を行った。そして、苛性ソーダを加えpHを6に調整した後、ろ過助剤を加えフィルタプレスでろ過（脱脂）した。得られた抽出溶液を、60%のエタノールに沈殿させ、冷却後、結晶を回収した。この結晶を2倍容量の水に溶解し、得られた抽出溶液を陽イオン交換樹脂を通して精製し、30%に濃縮後、スプレー乾燥し、コンドロイチン硫酸Naを得た。

#### 【0039】

##### （実施例2）

鮭の軟骨を45℃の温水で2時間洗浄し、脱脂・脱臭した。そして、軟骨量に対し25%濃度のアルカリ（苛性ソーダ）を2重量%、固形分濃度0.2%のタンパク分解酵素（パンクレアチン）を入れた水溶液を得た。これを55℃で3時間攪拌して酵素処理し、抽出溶液を得た。その後、95℃で5分間加熱し酵素失活させた。更に、活性炭を抽出溶液に対して0.3%の重量で添加し、55℃で1時間攪拌し、脱脂・脱臭・脱色を行った。酢酸を加えpHを6に調整した後、ろ過助剤を加えフィルタプレスでろ過（脱脂）した。得られた抽出溶液を、60%のエタノールに沈殿させ、冷却後結晶を回収した。結晶を再度、高濃度（90%）のアルコールで攪拌し、その後、遠心分離にて結晶を回収し、減圧乾燥させてコンドロイチン硫酸Naを得た。

#### 【0040】

##### （実施例3）

先ず、鮭の軟骨を45℃の温水で2時間洗浄し、脱脂・脱臭した。この軟骨に同量の水を加え、水溶液を得た。固形分濃度0.1～1.0%のタンパク分解酵素（アロアーゼ）を入れ55℃で3時間攪拌して酵素処理し、抽出溶液を得た。その後、95℃で5分間加熱し、酵素失活させた。更に、活性炭を抽出溶液に対して0.3%の重量で添加し、55℃で1時間攪拌し、脱脂・脱臭・脱色を行っ

た。そして、苛性ソーダを加え pH を 6 に調整した後、ろ過助剤を加えフィルタプレスでろ過（脱脂）した。更に、スプレードライで乾燥させ、コンドロイチン硫酸含有物を得た。このコンドロイチン硫酸含有物は、コンドロイチン硫酸 40 %、コラーゲン 20 % を含み、その他、アミノ酸、ヒアルロン酸、グルコサミン等を含んでいた。

#### 【0041】

##### （実施例 4）

鮭の軟骨を 45℃ の温水で 2 時間洗浄し、脱脂・脱臭した。その軟骨の半分の水を加え、水溶液を得た。タンパク分解酵素（パンクレアチン）を 0.1 %、入れ、50℃ で 2 時間攪拌して酵素処理し、抽出溶液を得た。95℃ 以上で 5 分間加熱し、酵素失活させた。酢酸で pH を 6 に調整した後、ろ過助剤を加え、脱臭後フィルタプレスでろ過（脱脂）した。更に、50 % 濃度のアルコールを抽出溶液を攪拌しながら加え、沈殿物を回収した。回収した沈殿物を減圧乾燥し、コンドロイチン硫酸含有物を得た。得られたコンドロイチン硫酸含有物は、コンドロイチン硫酸 60 %、コラーゲン 10 % を含み、その他、アミノ酸、ヒアルロン酸、グルコサミン等を含んでいた。

#### 【0042】

##### （実施例 5）

鮭の軟骨を 45℃ の温水で 2 時間洗浄し、脱脂・脱臭した。そして、軟骨量に対し 25 % 濃度のアルカリ（苛性ソーダ）を 2 % 入れた水溶液を得た。55℃ で 4 時間攪拌して抽出処理し、抽出溶液を得た。次に、酢酸で pH を 6 に調整し、更に、活性炭を抽出溶液に対して 0.3 % の重量で添加し、55℃ で 1 時間攪拌し、酵素失活と脱脂・脱色を行った。更に、ろ過助剤を加え、フィルタプレスでろ過（脱脂）した。その後、スプレードライで乾燥し、コンドロイチン硫酸含有物を得た。得られたコンドロイチン硫酸含有物は、コンドロイチン硫酸 28 %、コラーゲン 28 % を含み、その他、アミノ酸、ヒアルロン酸、グルコサミン等を含んでいた。

#### 【0043】

##### （実施例 6）

先ず、鮭の軟骨を 45℃の温水で2時間洗浄し、脱脂・脱臭した。この軟骨に同量の水を加え、水溶液を得た。固形分濃度 0.25% のタンパク分解酵素（パイン酵素）を入れ 55℃で3時間攪拌して酵素処理し、抽出溶液を得た。その後、95℃で5分間加熱し、酵素失活させた。更に、活性炭を抽出溶液に対して 0.3% の重量で添加し、55℃で1時間攪拌し、脱脂・脱臭・脱色を行った。そして、苛性ソーダを加え pH を 6 に調整した後、ろ過助剤を加えフィルタプレスでろ過（脱脂）した。更に、スプレードライで乾燥させ、コンドロイチン硫酸含有物を得た。このコンドロイチン硫酸含有物は、コンドロイチン硫酸 20%、コラーゲン 20% を含み、その他、アミノ酸、ヒアルロン酸、グルコサミン等を含んでいた。

#### 【0044】

##### （実施例 7）

先ず、鮭の軟骨を 45℃の温水で2時間洗浄し、脱脂・脱臭した。この軟骨に同量の水を加え、水溶液を得た。固形分濃度 0.15% のタンパク分解酵素（キウイ酵素）を入れ 55℃で3時間攪拌して酵素処理し、抽出溶液を得た。その後、95℃で5分間加熱し、酵素失活させた。更に、活性炭を抽出溶液に対して 0.3% の重量で添加し、55℃で1時間攪拌し、脱脂・脱臭・脱色を行った。そして、苛性ソーダを加え pH を 6 に調整した後、ろ過助剤を加えフィルタプレスでろ過（脱脂）した。更に、スプレードライで乾燥させ、コンドロイチン硫酸含有物を得た。このコンドロイチン硫酸含有物は、コンドロイチン硫酸 40%、コラーゲン 15% を含み、その他、アミノ酸、ヒアルロン酸、グルコサミン等を含んでいた。

#### 【0045】

##### （実施例 8）

先ず、鮭の軟骨を含むハーフカットの血抜きをし、45℃の温水で2時間洗浄し、脱脂・脱臭した。この軟骨に同量の水を加え、水溶液を得た。固形分濃度 0.1% のタンパク分解酵素（アロアーゼ）を入れ 55℃で3時間攪拌して酵素処理し、抽出溶液を得た。その後、95℃で5分間加熱し、酵素失活させた。更に、活性炭を抽出溶液に対して 0.3% の重量で添加し、55℃で1時間攪拌し、

脱脂・脱臭・脱色を行った。そして、苛性ソーダを加え pH を 6 に調整した後、ろ過助剤を加えフィルタプレスでろ過（脱脂）した。更に、スプレードライで乾燥させ、コンドロイチン硫酸含有物を得た。このコンドロイチン硫酸含有物は、コンドロイチン硫酸 28%、コラーゲン 28% を含み、その他、アミノ酸、ヒアルロン酸、グルコサミン等を含んでいた。

【0046】

【発明の効果】

本発明によれば、低コストで短時間にコンドロイチン硫酸 Na やコンドロイチン硫酸含有物を製造することができる。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 なるべく低コストで短時間にコンドロイチン硫酸Naやコンドロイチン硫酸含有物を製造する。

【解決手段】 魚類の軟骨を酵素処理してタンパク質を抽出させた溶液を、ろ過した後、ろ液にアルコールを添加してコンドロイチン硫酸Naを析出させる。こうして製造されたコンドロイチン硫酸Naは、例えば医薬品、医薬部外品、医薬品添加物、化粧品、食品添加物の原料素材に利用できる。また、魚類の軟骨を酵素処理してタンパク質を抽出させた溶液を、ろ過した後、ろ液を乾燥させることにより、コンドロイチン硫酸含有物を製造する。こうして製造されたコンドロイチン硫酸含有物は、例えば化粧品、食品素材に利用できる。

特願 2002-319418

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[501195223]

1. 変更年月日

2001年 5月16日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都港区西新橋1-2-9

氏 名

株式会社日本バリアフリー

2. 変更年月日

2003年 5月28日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都千代田区神田神保町1丁目41番地

氏 名

株式会社日本バリアフリー